

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-261444

(43)Date of publication of application : 16.09.2003

(51)Int.Cl. A61K 31/192
A61K 31/216
A61P 9/10
A61P 9/14
A61P 43/00

(21)Application number : 2002-060862

(71)Applicant : KAO CORP

(22)Date of filing : 06.03.2002

(72)Inventor : SUZUKI ATSUSHI
KAGAWA TAIJI
OCHIAI TATSUSHI
TOKIMITSU ICHIRO
SAITO IKUO

(54) HEMANGIOENDOTHELIAL FUNCTION IMPROVING AGENT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an agent for the prevention and treatment of arteriosclerosis by promoting an NO action and improving a hemangioendothelial function, having high safety and orally administrable over a long period and, accordingly, usable not only as a medicine but also as a functional food, a specified health food, or the like.

SOLUTION: The agent for the prevention and treatment of arteriosclerosis as the agent for promoting the NO action and as the agent for improving the hemangioendothelial function is composed of one or more components selected from chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid and their salts.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 12.05.2004

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2003-261444
(P2003-261444A)

(43) 公開日 平成15年9月16日 (2003.9.16)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/192		A 6 1 K 31/192	4 C 2 0 6
31/216		31/216	
A 6 1 P 9/10		A 6 1 P 9/10	
9/14		9/14	
43/00		43/00	
審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 5 頁)			

(21) 出願番号 特願2002-60862(P2002-60862)

(22) 出願日 平成14年3月6日 (2002.3.6)

特許法第30条第1項適用申請有り

(71) 出願人 000000918
花王株式会社
東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号
(72) 発明者 鈴木 淳
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会
社研究所内
(72) 発明者 加川 大治
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会
社研究所内
(74) 代理人 110000084
特許業務法人アルガ特許事務所

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血管内皮機能改善剤

(57) 【要約】

【解決手段】 クロロゲン酸、カフェ酸、フェルラ酸及びこれらの塩から選ばれる1種以上からなる動脈硬化予防治療剤、NO作用増強剤及び血管内皮機能改善剤。

【効果】 本発明によれば、NO作用を増強し、血管内皮機能を改善することによる動脈硬化予防治療剤が提供できる。これらは安全性が高く、長期間経口摂取ができることから、医薬品だけでなく機能性食品、特定保健用食品等としても有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 クロロゲン酸、カフェ酸、フェルラ酸及びこれらの塩から選ばれる1種以上からなる動脈硬化予防治療剤。

【請求項2】 クロロゲン酸、カフェ酸、フェルラ酸及びこれらの塩から選ばれる1種以上からなる一酸化窒素作用増強剤。

【請求項3】 クロロゲン酸、カフェ酸、フェルラ酸及びこれらの塩から選ばれる1種以上からなる血管内皮機能改善剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、血管内皮における一酸化窒素（NO）の作用を増強させ、血管内皮機能を改善する動脈硬化症の予防治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術】日本人の死因ワースト3は、癌、心疾患、脳血管疾患である（平成12年度厚生労働省人口動態統計）。心疾患や脳血管疾患は、動脈硬化により誘発される。動脈硬化の成因としては、に血管内皮を含む血管内膜の炎症性変化が深く関与していることが数多くの研究より確認されてきた。血管内皮細胞は血管内腔面を一層覆い、直接血管と接する唯一の細胞である。それゆえ、内皮細胞は循環により運ばれる種々の血管作動性物質やレオロジー変化（流れ応力）に対して速やかに応答し、血管平滑筋機能をコントロールすることで局所循環動態を調節している。一酸化窒素（NO）は、生体内でNO合成酵素によりL-アルギニンと酸素分子とから生成する。血管内皮由来の血管弛緩因子であるNOの役割は、主として増殖性変化・炎症性変化・血小板凝集・酸化ストレスなどの対する抑制作用であり、動脈硬化・高脂血症など種々の危険因子の存在下で、NOの産生低下や作用不足が認められている（Quyyumi AA et al : JCI in Invest 95 : 1747, 1995）。NOの産生低下・作用不足の機序は複雑であるが、内皮や内皮下層に蓄積したリポ蛋白、特に酸化LDLによるNOの不活化亢進、内皮下層のマクロファージや好中球などにより産生される活性酸素種によるNOの不活化亢進などが関与する可能性がある。逆に、NOが過剰産生されるような状況下でもNO自体が非常に不安定で反応性に富むラジカル分子であるため、スーパーオキシドアニオンラジカルと反応して産生されるパーオキシナイトライトなどの活性酸素種を介して組織障害を惹起する可能性がある。以上のように、NOは血管の張力を規定する重要な因子であり、血管組織においてNO産生を増加させたり、NOが作用しやすい状況を作り出すことが出来れば、動脈硬化の予防・治療が期待できる。従来の動脈硬化の抑制方法は、その大きな危険因子である高脂血症や高コレステロール血症、特に、高LDL血症の抑制が主なものである。高脂血症の治療には、フィブラート系やスタチン系の抗高

脂血症薬あるいはニコチン酸系コレステロール低下剤などが用いられる。これらの薬剤は、高脂血症の改善には優れた効果を発揮するものの、顔・手足・口中の腫れ、不整脈、発熱、腹痛、発疹、動悸、痙攣、めまい、吐き気などの副作用が少なからず存在するといわれる。また、1980年代の中頃より、動脈硬化の発症に、酸化変性を受けた脂質、特に酸化LDLが重要な役割を果たすことが注目され、動物実験をはじめとして多くの酸化予防試験が実施されてきた。天然の抗酸化物質として、ビタミンE、ビタミンC、βカロチンなど、また薬剤として脂質低下剤であるプロブコールなどの研究が中心であった。しかし、これら抗酸化物質による動脈硬化の予防に関して、現在のところ、明確な有効性が認められるまでには至っていない。従って、現状において、動脈硬化の予防・治療には、副作用が少なく、持続的に摂取可能で、且つ明確な効果の得られる素材がなく、その創出が求められている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、NOの作用を増強させ、血管内皮機能を改善することによる動脈硬化予防治療剤を提供することを目的とする。

【0004】

【課題を解決するための手段】そこで本発明者は、長期的に服用又は摂取することができる安全性の高い成分の中からNO作用の増強効果を有する成分を見出すべく種々検討した結果、生コーヒー抽出物に多く含まれているクロロゲン酸及びカフェ酸、フェルラ酸が優れたNO作用増強効果、血管内皮弛緩作用を有し、動脈硬化予防治療剤として有用であることを見出した。またこれらの有効成分は、マイルドな血管機能改善作用を有することから、副作用はほとんどないこと、また、腸管内に長く留まり、活性を発揮する代謝物が持続的に体内に供給されるため、作用の発現が持続するという特徴を有することを見出した。

【0005】すなわち、本発明は、クロロゲン酸、カフェ酸、フェルラ酸及びこれらの塩から選ばれる1種以上からなる動脈硬化予防治療剤、NO作用増強剤及び血管内皮機能改善剤を提供するものである。

【0006】

【発明の実施の形態】本発明で用いるクロロゲン酸、カフェ酸及びフェルラ酸は、これを含む天然物、特に植物から抽出することもできるが、化学合成により工業的に製造することもできる。

【0007】本発明でいうクロロゲン酸には、ネオクロロゲン酸、イソクロロゲン酸類（例えば、3, 5-ジカフェオイルキナ酸等）、クロプトクロロゲン酸、5-カフェオイルキナ酸等が含まれる。クロロゲン酸又はカフェ酸は、例えば、コーヒー生豆、南天の葉、リンゴ未熟果などのクロロゲン酸を多く含む植物体から抽出したものでよく、例えば、アカネ科コーヒー（Coffea arabi

ca LINNE) の種子より、温時アスコルビン酸又はクエン酸酸性水溶液で抽出して得られる生コーヒー豆の抽出物をそのまま用いることもできる。

【0008】フェルラ酸又はそのエステルを含有する植物としては、例えば、コーヒー、タマネギ、ダイコン、レモン、センキュウ、トウキ、マツ、オウレン、アギ、カンショ、トウモロコシ、大麦、小麦、コメ等が好ましく、特にコメが好ましい。本明細書におけるコメとは、イネ科イネ (*Oryza sativa* LINNE) の種実等の生又は乾燥物を意味する。

【0009】フェルラ酸エステルは、天然物、特に植物中に本来含有されているものの抽出又は分画の際の化学的処理によって変換したもの、及びその化学的修飾を行ったものが含まれる。例えば、コメの糠より得られた米糠油を、室温時弱アルカリ性下で含水エタノール及びヘキサンで分配した後、含水エタノール画分に得られる。本発明で用いるフェルラ酸は、上記工程より得られたフェルラ酸エステルを加圧下熱時硫酸で加水分解し、精製して得るか；又は細菌 (*Pseudomonas*) を、フトモモ科チョウジノキ (*Syzygium aromaticum* MERRILL et PERRY) のつぼみ及び葉より水蒸気蒸留で得られた丁子油、又は丁子油から精製して得られたオイゲノールを含む培養液で培養し、その培養液を、分離、精製して得ることができる。また、化学合成によってフェルラ酸を調製する場合は、例えば、パニリンとマロン酸との縮合反応による方法を挙げることができる (Journal of American Chemical Society, 74, 5346, 1952)。なお、フェルラ酸等には立体異性体が存在するがいずれの異性体も使用することができるが、また異性体の混合物であってもよい。

【0010】クロロゲン酸、カフェ酸及びフェルラ酸は、塩にすることにより水溶性を向上させ、生理学的有効性を増大させることができる。これらの塩としては、薬学的に許容される塩であれば特に限定されない。このような塩の塩形成用の塩基物質としては、例えば、水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリ金属の水酸化物；水酸化マグネシウム、水酸化カルシウム等のアルカリ土類金属の水酸化物；水酸化アンモニウム等の無機塩基、アルギニン、リジン、ヒスチジン、オルニチン等の塩基性アミノ酸；モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン等の有機塩基が用いられるが、特にアルカリ金属又はアルカリ土類金属の水酸化物が好ましい。本発明においては、これらの塩を調製してから、その他の成分からなる組成物中に添加したものでもよいし、クロロゲン酸、カフェ酸又はフェルラ酸と塩形成成分とを別々に該組成物中に添加して、この中で塩を形成せしめたものでもよい。

【0011】本発明の成分は2種以上を併用してもよい。これらの成分は、成人 (体重60kg) 1日あたり0.001~10g、好ましくは0.005~5g、更に好ましくは0.01~0.5g摂取するのがよい。

【0012】本発明の動脈硬化予防治療剤、NO作用増強剤、血管内皮機能改善剤は、上記有効成分に薬学的に許容される担体を添加して、経口用又は非経口用の組成物とすることができる。経口用組成物としては、錠剤、顆粒剤、細粒剤、丸剤、散剤、カプセル剤 (硬カプセル剤及び軟カプセル剤を含む)、トローチ剤、チュアブル剤、液剤 (ドリンク剤) などが挙げられる。また、非経口用組成物としては、注射剤などの静脈内投与製剤、坐剤、皮膚外用剤などが挙げられる。

10 【0013】また本発明の動脈硬化予防治療剤、NO作用増強剤、血管内皮機能改善剤は、安全性に優れ、健康者が日常、飲食しても何ら問題なく、ジュース、コーヒー、緑茶、ウーロン茶等の飲料、スープ等の液状食品、牛乳、カレー等の乳状又はペースト状食品、ゼリー、グミ等の半固形状食品、ガム、豆腐、サプリメント等の固形状食品、あるいは粉末状食品、マーガリン、マヨネーズ、ドレッシング等の油脂含有食品等の飲食品に配合して用いてもよい。これら飲食品への配合量は、一食当たり0.001~50重量%、好ましくは0.01~25重量%、更に0.05~10重量%であるのがより好ましい。クロロゲン酸、カフェ酸及びフェルラ酸の確認は、電気化学検出器付きの高速液体クロマトグラフィーにより行われる。

【0014】近年、血流依存性血管拡張反応測定法 (flow mediated dilation; FMD) が血管内皮機能を表し、動脈硬化早期の指標のひとつであると言われる (橋本ら：臨床医 24: 789, 1998)。FMDを実験的に求める方法として一般的に用いられているものは、動脈血流増加比、すなわち反応充血時動脈血流量 (%/min) を安静時基礎血流量 (%/min) で除した値である。健康人の動脈血流増加比はおおむね4以上であるのに対して、動脈硬化者及びその傾向者のそれは0以上4以下であると言われる。本発明品の主な対象者は動脈血流増加比が0から4である健康人及び動脈硬化症患者及びその傾向者であるが、4以上の健康人が使用しても予防効果が期待される。

【0015】このように本発明の動脈硬化予防治療剤、NO作用増強剤、血管内皮機能改善剤は、安全性に優れ、医薬品としてだけでなく、健康者が日常、飲食しても何ら問題なく、錠剤、顆粒剤等のサプリメントの形態や、種々の飲料の形態、各種食品の形態、特に特定保健用食品の形態で用いることができる。

【0016】

【実施例】実施例1：摘出血管による血管拡張反応評価
8週齢の雄性自然発症高血圧ラット (SHR) の胸部大動脈を摘出した。得られた動脈をマグヌス管に懸垂し、1gの張力を負荷した。ノルアドレナリン (10^{-7} M) をマグヌス管に添加して平滑筋を収縮させた。収縮が安定した時点でフェルラ酸を添加し、張力トランスデューサーで張力を測定した。また、NO合成酵素阻害剤であ

るN-ニトロ-L-アルギニンメチルエステル(L-NAME、 10^{-4} M)をフェルラ酸よりも先に添加した場合の弛緩率も併せて測定した。なお、表1中の弛緩率(%)はアセチルコリン(10^{-6} M)添加時の弛緩率を100として示した。その結果、表1に示すようにフェルラ酸の添加により血管は弛緩し、その弛緩作用はNO

血管弛緩率(%) (ラット摘出血管標本)

	フェルラ酸(mM)		
	0.1	0.5	1
L-NAME無処理	9±1	29±3	61±1
L-NAME処理(10^{-4} M)	3±1*	16±1*	41±4*

平均値±標準誤差(n=3)

*p<0.05 vs. L-NAME無処理

【0018】実施例2：FMDによる血管機能評価
健常男性11名にクロロゲン酸148mg含有果汁入り飲料120mLを、1日1本ずつ3ヶ月間飲用させた。また、プラセボ飲料として果汁入り飲料を用いた。この被験者の反応充血時動脈血流量(%/min)と安静時基礎血流量(%/min)をプレチスモグラフィ(Plethymograph (EC5R), D.C.Hokanson Inc.)を用いて測定した。ここでプレチスモグラフィは、前腕部等の加圧により、静脈還流を妨げ、動脈から静脈への血液の流入を測定し、次いで圧を解除することにより静脈からの血液の流出を測定することにより、組織基礎血流量を測定する装置であ

合成酵素阻害剤であるL-NAMEにより阻害された。このことから、フェルラ酸の血管弛緩作用はNO作用増強作用によるものであることがわかる。

【0017】

【表1】

る。また、血管内皮機能は、動脈血流増加比、すなわち反応充血時動脈血流量を安静時基礎血流量で除した値として求められる。今回被験者として用いた健常人の動脈血流増加比の初期値は0～5であり、早期動脈硬化症患者も含まれるものと思われる。得られた結果を表2に示す。なお、表2には、服用前の値を100%とした相対%で示した。表2から明らかなように、クロロゲン酸の服用により血管内皮機能が改善されたことがわかる。

【0019】

【表2】

動脈血流増加比(血管内皮機能)

	飲用開始前	3ヶ月後
プラセボ飲料	1.7±0.8	1.4±0.9
クロロゲン酸飲料	1.5±1.2	2.5±1.1*

動脈血流増加比=反応充血時動脈血流量(%/min)/安静時基礎血流量(%/min)

平均値±標準誤差(n=11), *p<0.05 vs. 初期値

【0020】実施例3 軟カプセル剤
ゼラチン 70.0 (重量%)
グリセリン 22.9
パラオキシ安息香酸メチル 0.15
パラオキシ安息香酸プロピル 0.51
水 6.44
上記組成からなる軟カプセル剤皮(オパール型、重さ150mg)の中に大豆油400mgとカフェ酸50mgとフェルラ酸50mgを定法により充填し、軟カプセル剤を製造した。

【0021】実施例4

次に飲料としての利用例を示す。

脱脂粉乳 3.5 (重量%)
ミルクカゼイン酵素分解物 3.5
フラクトース 9.0

クロロゲン酸 0.3
フェルラ酸ナトリウム 1.0
クエン酸 0.1
アスコルビン酸 0.1
香料 0.1
水 82.4

上記組成の飲料の保存安定性は高く、また、風味も良好であった。

【0022】

40 【発明の効果】本発明によれば、NO作用を増強し、血管内皮機能を改善することによる動脈硬化予防治療剤が提供できる。これらは安全性が高く、長期間経口摂取ができることから、医薬品だけでなく機能性食品、特定保健用食品等としても有用である。

フロントページの続き

(72)発明者 落合 龍史
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会
社研究所内
(72)発明者 時光 一郎
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会
社研究所内

(72)発明者 齊藤 郁夫
東京都新宿区信濃町35番地 慶應大学保
健・管理センター内
Fターム(参考) 4C206 AA01 AA02 DA21 DB20 DB56
KA01 ZA36 ZA45 ZC41